

## **Estresse oxidativo e o mecanismo de defesa de plantas contra patógenos**



ISSN 0103-9865  
Novembro, 2013

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Rondônia  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## ***Documentos*157**

### **Estresse oxidativo e o mecanismo de defesa de plantas contra patógenos**

**Cléberson de Freitas Fernandes  
José Roberto Vieira Júnior  
Domingos Sávio Gomes da Silva  
Rita de Cássia Alves**

Porto Velho, RO  
2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Rondônia**

BR 364 km 5,5, Caixa Postal 127, CEP 76815-800, Porto Velho, RO  
Telefones: (69) 3901-2510, 3225-9387, Fax: (69) 3222-0409  
www.cpafrro.embrapa.br

**Comitê de Publicações**

Presidente: *Cléber de Freitas Fernandes*

Secretárias: *Marly de Souza Medeiros e Sílvia Maria Gonçalves Ferradaes*

Membros:

*Marília Locatelli*

*Rodrigo Barros Rocha*

*José Nilton Medeiros Costa*

*Ana Karina Dias Salman*

*Luiz Francisco Machado Pfeifer*

*Fábio da Silva Barbieri*

*Maria das Graças Rodrigues Ferreira*

Normalização: *Daniela Maciel*

Editoração eletrônica: *Marly de Souza Medeiros*

Revisão gramatical: *Wilma Inês de França Araújo*

**1ª edição**

1ª impressão (2013): 100 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.  
Embrapa Rondônia

---

Estresse oxidativo e o mecanismo de defesa de plantas contra patógenos /  
Cléber de Freitas Fernandes ... [et al].-- Porto Velho, RO: Embrapa  
Rondônia, 2013.

11 p. -- (Documentos / Embrapa Rondonia, ISSN 0103-9865; 157)

1. Fitossanidade. 2. Defesa Vegetal. 3. Estresse Oxidativo. I.  
Fernandes, Cléber de Freitas. II. Vieira Júnior, José Roberto. III. Silva,  
Domingos Sávio Gomes da. IV. Alves, Rita de Cássia. V. Título. VI. Série.

---

CDD (21.ed.) 632.95

© Embrapa – 2013

## **Autores**

### **Cléberon de Freitas Fernandes**

Farmacêutico, D.Sc. em Bioquímica, pesquisador da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, cleberon.fernandes@embrapa.br

### **José Roberto Vieira Júnior**

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia pesquisador da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, jose-roberto.vieira@embrapa.br

### **Domingos Sávio Gomes da Silva**

Assistente da Embrapa Rondônia, Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, domingos.savio@embrapa.br

### **Rita de Cássia Alves**

Graduanda em Farmácia, das Faculdades Integradas Aparício Carvalho (FIMCA), bolsista PIBIC/CNPq Porto Velho, RO, rita\_diggory@hotmail.com



## Sumário

<b>Introdução .....</b>	<b>7</b>
<b>Espécies reativas de oxigênio (ROS) .....</b>	<b>7</b>
<b>Enzimas envolvidas no estresse oxidativo .....</b>	<b>8</b>
Peroxidases do ascorbato .....	8
Dismutases de superóxido .....	9
Catalase .....	9
Fenilalanina amônia liase .....	9
<b>Considerações finais .....</b>	<b>10</b>
<b>Referências .....</b>	<b>10</b>





# **Estresse oxidativo e o mecanismo de defesa de plantas contra patógenos**

---

*Cléberson de Freitas Fernandes*  
*José Roberto Vieira Junior*  
*Domingos Sávio Gomes da Silva*  
*Rita de Cássia Alves*

## **Introdução**

Por estarem as plantas expostas a uma gama de patógenos, buscou-se desenvolver mecanismos eficientes para retardar ou bloquear a infestação destes. Neste cenário foram desenvolvidos mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos.

Este arsenal envolve tanto defesas pré-formadas como as induzidas, ou seja, aquelas que aumentam seus níveis após o ataque do patógeno (VERBENE et al., 2000). O que se observa na natureza é uma predominância da resistência em comparação com a ocorrência de doenças. Este fato pode ser facilmente verificado quando se observa o grande número de microrganismos e compara-se ao número de doenças descritas. A interação planta-microrganismo conta ainda com a ativação de mecanismos que levam a uma redução dos danos causados por potenciais agentes patogênicos (BITTEL; ROBATZEK, 2007).

A ativação destes mecanismos inicia-se no reconhecimento pela planta de elicitores, os quais são oriundos do agente patogênico e são reconhecidos por receptores específicos na superfície celular, levando a ativação das barreiras físicas e químicas envolvidas no processo (AUSUBEL, 2005).

Dentre as principais respostas de defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos podemos destacar a resposta hipersensitiva (HR), resistência sistêmica adquirida (SAR), indução de proteínas relacionadas à patogênese (PR-Proteínas) e espécies reativas de oxigênio (ROS), como por exemplo, íons superóxido e peróxido de hidrogênio.

O presente trabalho visa apresentar aspectos da participação das espécies reativas de oxigênio no mecanismo de defesa de plantas contra o ataque de patógenos, evidenciando o papel de cada componente.

## **Espécies reativas de oxigênio (ROS)**

A produção de espécies reativas de oxigênio em plantas é considerada um dos eventos iniciais da resposta de defesa da planta contra o ataque de patógenos, sendo responsável por reações de fortalecimento da parede celular vegetal, visando impedir a penetração do agente patogênico, por liberação de compostos sinalizadores, os quais promovem a indução de resistência em locais distantes do sítio de penetração, e pela indução da resposta hipersensitiva (FINKEL, 2000; AGRIOS, 2004; LEÓN; MONTESANO, 2013).

A resposta hipersensitiva (HR) constitui-se em uma morte celular programada, a qual ocorre no sítio de infecção, levando ao colapso o tecido vegetal, restringindo, assim, a colonização do patógeno.

O papel das espécies reativas de oxigênio e sua participação no mecanismo de defesa de plantas contra o ataque de patógenos biotróficos é bem estabelecido. A morte celular provocada por estes compostos leva a impossibilidade de colonização do tecido por parte do patógeno, restringindo suas fontes de nutrientes, levando à morte o mesmo. Entretanto, para agentes patogênicos necrotróficos, este papel continua sendo estudado, visto que a morte celular causada pelas espécies reativas de oxigênio parece favorecer o agente, promovendo condições ideais de nutrientes. Mais ainda, alguns destes agentes parecem induzir a produção de ROS, enquanto que agentes biotróficos buscam ativar mecanismos de bloqueio da produção destes compostos (FINKEL, 2000; NEIL et al., 2002).

Desta forma, o estabelecimento de mecanismos de controle dos níveis destas espécies reativas de oxigênio contribuirá para o desenvolvimento da habilidade de um hospedeiro em ser capaz de resistir ou sucumbir ao ataque de um determinado agente patogênico (FERNANDES, 2004).

Neste cenário se apresentam como componentes fundamentais as enzimas relacionadas ao estresse oxidativo. Estas enzimas são as responsáveis por regular os níveis de espécies reativas de oxigênio nos hospedeiros, controlando, assim, a intensidade da resposta e a duração da mesma. Entre estas enzimas podemos citar a peroxidase do ascorbato, dismutases de superóxido, catalase e fenilalanina amônia liase.

## **Enzimas envolvidas no estresse oxidativo**

### **Peroxidases do ascorbato**

A produção de peróxido de hidrogênio é uma das principais características do metabolismo celular, notadamente sob condições adversas, como nos casos de estresses bióticos ou abióticos. Neste cenário, cabe às peroxidases do ascorbato (APX) o papel de degradar este composto, utilizando como substrato da reação o ascorbato, constituindo-se em um dos mais importantes mecanismos oxidativos das plantas (VENISSE et al., 2002; LEE; LEE, 2000).

Esta característica oxidativa faz com que estas enzimas estejam associadas ao mecanismo de defesa das plantas, tanto em situação de estresse biótico como abiótico. Diversos estudos têm demonstrado a participação destas enzimas no processo de defesa em diferentes patossistemas (MITTLER; ZILINSKAS, 1993; PEIXOTO, 1999; FERNANDES, 2004).

Interações envolvendo patógenos com característica hemibiotrófica ou necrotrófica necessitam do acúmulo de peróxido de hidrogênio para indução da resposta hipersensitiva, com consequente morte celular, beneficiando estes patógenos. Neste caso, estas enzimas podem desempenhar papel fundamental na resposta de defesa, contribuindo na degradação do peróxido de hidrogênio, invertendo o processo de morte celular e consequentemente a colonização do patógeno, estabelecendo o processo de resistência ao ataque destes microrganismos.

## Dismutases de superóxido

No processo de interação patógeno – hospedeiro, uma das consequências metabólicas é a produção de íons superóxido, que se constituem em uma das espécies reativas de oxigênio com potencial para causar danos às células vegetais (FRIDOVICH, 1986). A permanência destas espécies reativas na célula vegetal causa sérias consequências ao desenvolvimento celular, tornando urgente sua eliminação (MARTINEZ et al., 2001).

Para este processo de eliminação as plantas utilizam um eficiente sistema de detoxificação, que envolve as dismutases de superóxidos (SOD) e as peroxidases de ascorbato, dentre outras enzimas. As dismutases de superóxido são responsáveis pela transformação dos íons superóxido em peróxido de hidrogênio. A partir daí este peróxido de hidrogênio seria eliminado pela ação das peroxidases de ascorbato, minimizando os efeitos tóxicos destes compostos (LEE; LEE, 2000).

As dismutases de superóxido constituem uma família de metaloenzimas que são classificadas de acordo com seu sítio ativo para metais, como por exemplo, cobre/zinco (Cu/ZnSOD), ferro (FeSOD) ou manganês (MnSOD) (SCANDALIOS, 1993).

## Catalase

O processo de eliminação do peróxido de hidrogênio oriundo do metabolismo celular, bem como da conversão dos íons superóxido pela enzima dismutase de superóxido, envolve a participação de enzimas como as peroxidases e a catalase (SIEGEL, 1993).

A ação destas enzimas apresenta-se como um importante mecanismo de controle para evitar o estresse oxidativo gerado no sítio de infecção, levando à formação de água e oxigênio molecular (SCANDALIOS, 1993; GARCÍA-LIMONES et al., 2002).

A catalase ocorre como diferentes isoformas nas plantas, sendo encontradas nos glioxissomos durante o processo de germinação das sementes e em peroxissomos (HAVIR; MCHALE, 1987). Essas enzimas são extremamente sensíveis à fotoinativação e à degradação, podendo, ainda, serem inativadas por altas concentrações de peróxido de hidrogênio (FOYER et al., 1994; ANDERSON et al., 1995).

Uma propriedade relevante desta enzima é que ela sofre regulação através do ácido salicílico, sendo inibida pelo aumento excessivo do mesmo. Este tipo de regulação pode ser um fator importantíssimo na determinação das características de resistência e ou suscetibilidade desenvolvida por determinada planta aos patógenos (HAMMOND-KOSACK; JONES, 2000).

## Fenilalanina amônia liase

Outro importante componente do sistema de defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos é a enzima fenilalanina amônia liase (PAL), a qual é responsável pela conversão de fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico, que é um componente-chave nas vias de produção de lignina e de ácido salicílico (MAUCH-MANI; SLUSARENKO, 1996; SARMA et al., 1998; EL-SHORA, 2002).

Regulação da atividade de fenilalanina amônia liase torna-se de fundamental importância na modulação da biossíntese de fenilpropanóides, tendo sido mostrado que esta enzima é o ponto chave da regulação desta via (MAUCH-MANI; SLUSARENKO, 1996).

Encontrada em uma grande quantidade de espécies, a mesma pode desempenhar papéis diferenciados, atuando desde a resistência local, ou seja, no sítio de infecção, reforçando as barreiras físicas da planta por meio da lignificação, tanto na resistência em locais distantes do sítio de infecção, fenômeno este conhecido como resistência sistêmica adquirida, tendo no ácido salicílico um importante sinalizador de ativação (HAMMOND-KOSACK; JONES, 1996; RYALS et al., 1996).

Além de sua atividade na ativação de barreiras físicas, esta enzima também pode atuar de forma direta sobre os patógenos, por meio da participação na síntese de compostos fenólicos, evidenciando seu importante papel no complexo mecanismo de defesa que as plantas utilizam para se defenderem do ataque de microrganismos (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992).

## Considerações finais

A determinação do real papel dos mecanismos de controle das espécies reativas de oxigênio na resposta de defesa contra o ataque de fitopatógenos, bem como, do arsenal bioquímico envolvido neste controle será determinante para o entendimento da relação patógeno-hospedeiro.

Por outro lado, o entendimento do papel de cada componente, como por exemplo, das enzimas ligadas ao estresse oxidativo, poderão subsidiar estratégias de programas de melhoramento de plantas, buscando aliar a ação destas enzimas com outras já descritas como importantes no mecanismo de defesa, como as peroxidases, glucanases e quitinases.

## Referências

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego, Califórnia: Elsevier, 2004. 922 p.
- ANDERSON, M. D.; PRASAD, T. K.; STEWART, C. R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 109, n. 4, p. 1247-1257, 1995.
- AUSUBEL, F. M. Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? **Nature Immunology**, New York, v. 6, n. 10, p. 973-979, 2005.
- BITTEL, P.; ROBATZEK, S. Microbe-associated molecular patterns (MAMPs) probe plant immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, Londres, v. 10, n. 4, p. 335-341, 2007.
- EL-SHORA, H. M. Properties of phenylalanine ammonia-lyase from marrow cotyledons. **Plant Science**, Limerick, v. 162, n. 1, p. 1-7, 2002.
- FERNANDES, C. F. **Expressão de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo e ao mecanismo de defesa do feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] ao fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav. 2004. 162f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.**
- FINKEL, T. Redox-dependent signal transduction. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 476, n. ½, p. 52-54, 2000.
- FOYER, C. H.; LELANDIS, M.; KUNERT, K. J. Photooxidative stress in plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 92, n. 4, p. 696-717, 1994.
- FRIDOVICH, I. Biological effects of the superoxide radical. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 247, n. 1, p. 1-11, 1986.

- GARCÍA-LIMONES, C.; HERVÁS, A.; NAVAS-CORTÉS, J. A.; JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M.; TENA, M. Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Londres, v. 61, n. 6, p. 325-337, 2002.
- HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Resistance gene-dependent plant defense responses. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, n. 10, p. 1773-1791, 1996.
- HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Responses to plant pathogens. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Maryland: American Society of Plant Physiologists, 2000. cap. 21, p. 1102-1157.
- HAVIR, E. A.; McHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, Rockville, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.
- LEE, D.; LEE, C. B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. **Plant Science**, Shannon, v. 159, n. 1, p. 75-85, 2000.
- LEÓN, I. P.; MONTESANO, M. Activation of defense mechanisms against pathogens in mosses and flowering plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 2, p. 3178-3200, 2013.
- MARTINEZ, C. A.; LOUREIRO, M. E.; OLIVA, M. A.; MAESTRI, M. Differential responses of superoxide dismutase in freezing resistant *Solanum curtilobum* and freezing sensitive *Solanum tuberosum* subjected to oxidative and water stress. **Plant Science**, Shannon, v. 160, n. 3, p. 505-515, 2001.
- MAUCH-MANI, B.; SLUSARENKO, A., J. Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of Arabidopsis to *Peronospora parasitica*. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, n. 2, p. 203-212, 1996.
- MITTLER, R.; ZILINSKAS, B. A. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate-dependent reduction of nitroblue tetrazolium. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 212, n. 2, p. 540-546, 1993.
- NEIL, S. J.; DESIKAN, R.; CLARKE, A.; HURST, R. D.; HANCOCK, J. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signal molecules in Planting. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 372, p. 1237-1247, 2002.
- NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 369-389, 1992.
- PEIXOTO, P. H. P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P. R.; MOREIRA, M. A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, n.3, p. 137-143, 1999.
- RYALS, J. A.; NEUENSCHWANDER, U. H.; WILLITS, M. G.; MOLINA, A.; STEINER, H. Y.; HUNT, M. D. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, p. 1809-1819, 1996.
- SARMA, A. D.; SREELAKSHMI, Y., SHARMA, R. Differential expression and properties of phenylalanine ammonia-lyase isoforms in tomato leaves. **Phytochemistry**, New York, v. 49, n. 8, p. 2233-2243, 1998.
- SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Rockville, v. 101, n. 1, p. 1-7, 1993.
- SIEGEL, B. Z. Plant peroxidase: an organismic perspective. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 12, n. 3, p. 303-312, 1993.
- VENISSE, J.-S.; MALNOY, M.; FAIZE, M.; PAULIN, J.-P.; BRISSET, M.-N. Modulation of defense responses of *Malus* spp. during compatible and incompatible interactions with *Erwinia amylovora*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul-MN, v. 15, n. 12, p. 1204-1212, 2002.
- VERBENE, M. C.; VERPOORTE, R.; BOL, J. F.; MERCADO-BLANCO, J.; LINTHORST, H. J. M. Overproduction of salicylic acid in plants by bacterial transgenes enhances pathogen resistance. **Nature Biotechnology**, New York, v. 18, n. 7, p. 779-783, 2000.





**Embrapa**

---

**Rondônia**